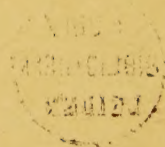


Versuche zum Nachweis von
Butazolidin und
Butazolidinstoffwechselprodukten
im Harn

Ingrid Ramsauer

aus Winterth

1957



Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der
Universität Erlangen

Direktor: Professor Dr.med. et phil. E.Weinig

Versuche zum Nachweis von Butazolidin
und Butazolidinstoffwechselprodukten im Harn

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu Erlangen

vorgelegt von
Ingrid Ramsauer
aus Winteritz



Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen.

Dekan : Professor Dr. N. Henning

Referent : Professor Dr. Dr. E . Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 6.8.1957

Disposition.

A. Einleitung	Seite 1
B. Literarischer Teil	1
1.) Chemie und Pharmakologie des Butazolidins	1
2.) Darstellungsweise des Butazolidins	3
3.) Das Verhalten des Butazolidins im Organismus	5
4.) Wirkungsweise und Wirkungsmechanismus des Butazolidins	5
5.) Harnsäureausscheidung nach Butazolidin	6
6.) Therapeutische Anwendung des Butazolidins	7
7.) Toxische Nebenerscheinungen bei der Butazolidin- und Irgapyrin-Medikation	9
8.) Nachweismethoden für das Butazolidin	11
C. Eigene Untersuchungen	13
a) Harnuntersuchung nach Butazolidinaufnahme	13
b) Qualitative Untersuchung auf Harnsäure	14
c) Quantitative Harnsäurebestimmung	15
d) Vorversuche mit reinem Butazolidin	17
1. Wasserdampfdestillation und spektrophotometrische Messungen	18
2. Papierchromatographie	20
α) Lösungsmittelgemische	21
β) Indikatoren	22
e) Harnextraktionen	23
f) Präparative Untersuchungen zum Nachweis von möglichen Butazolidin-Stoffwechselprodukten	24
g) Synthese von Butylmalonsäure	25
h) Papierchromatographischer Nachweis von Butylmalonsäure und Capronsäure und Vergleiche mit Butazolidinharnextrakten	26
i) Nachweis von Hydrazobenzol, Azobenzol und Benzidin in Butazolidinharnextrakten	28
j) Nachweis unbekannter Substanzen im Harn nach Butazolidinaufnahme	30
D. Zusammenfassung	34
Literaturverzeichnis	38
Lebenslauf	42



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A. Einleitung.

Bei der ständig zunehmenden Zahl unserer Arzneimittel ist es in der gerichtlichen Medizin notwendig, für fast jedes, häufiger verwendete Medikament einen möglichst spezifischen Nachweis zu finden.

In den letzten Jahren ist besonders der Verbrauch der analgetisch, antipyretisch und antiphlogistisch wirkenden Rheumamittel stark angestiegen. Am bekanntesten ist wohl das Butazolidin bzw. das Kombinationspräparat Irgapyrin der J.R. Geigy A.-G. Basel.

Da bisher noch kein spezifischer Nachweis für dieses Präparat bekannt ist, ist es von gerichtsmedizinischem Interesse, einen solchen zu finden, um bei toxikologischen Untersuchungen einmal das Butazolidin von etwaigen Giften einwandfrei abzutrennen, zum anderen Vergiftungen, die durch das Butazolidin selbst hervorgerufen werden, sicher nachzuweisen.

In der Literatur sind in einem Zeitraum von 5 Jahren, abgesehen von den zahlreichen toxischen Nebenerscheinungen, 28 Todesfälle nach Butazolidin- bzw. Irgapyrin-Verabreichung veröffentlicht. Diese Zahl zeigt, daß Butazolidin keineswegs zu den harmlosen Analgetica gehört und rechtfertigt die Forderung des Gerichtsmediziners nach einem guten und wenigstens annähernd spezifischen Nachweis.

B. Literarischer Teil.

1.) Chemie und Pharmakologie des Butazolidins.

Nachdem im Jahre 1640 die Chinarinde in Europa eingeführt wurde, war über 200 Jahre das Chinin als einziges wirksames Fiebermittel bekannt. Erst im Jahre 1875 wurde die antipyretische Wirkung der Salicylsäure entdeckt und 1897 das von Knorr entdeckte Pyramidon in die Therapie eingeführt. Bald zeigte sich, daß diese Substanzen außer einer guten antipyretischen auch eine gute analgetische und antiphlogistische Wirkung besitzen.

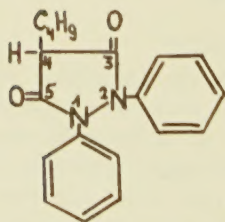
Schottmüller hat in seinen "Rheumaproblemen" darauf hingewiesen, daß weit bessere Erfolge auftreten, wenn man die Pyrazolone in sehr hohen Dosen verabfolgt. Um die unangenehme perorale Medikation zu umgehen, war man bestrebt, ein wasserlösliches und somit injizierbares Pyrazolonpräparat zur Erleichterung der Stoßtherapie zu finden.

Nach langer Forschungsarbeit ist es Stenzl (erstmalig 1949 veröffentlicht) in den Laboratorien der J.R.Geigy A.-G. Basel gelungen, im 3,5-Dioxo-1,2-diphenyl-4-n-butyl-pyrazolidin-Natrium = G 13871 eine Substanz zu synthetisieren, die pharmakologisch gesehen selbst die Wirkungseigenschaften der Pyrazolone besitzt, leicht wasserlöslich ist und außerdem das schwer lösliche Dimethylaminoantipyrin bis zu 20% in Lösung bringt.

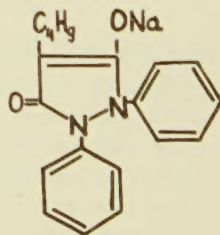
Das 3,5-Dioxo-1,2-diphenyl-4-n-butyl-pyrazolidin ist unter dem Namen Butazolidin (WZ) bzw. Phenylbutazone bekannt geworden. Sein Natriumsalz hat einen p_H -Wert von 8,2, eignet sich deshalb gut zur parenteralen Applikation. Die zugrunde liegende Säure ist in Wasser praktisch nicht, in Alkohol und Äther jedoch weitgehend löslich.

Das Gemisch von G 13871 (Butazolidinnatrium) und Dimethylaminoantipyrin zu gleichen Teilen wurde 1949 unter dem Namen Irgapyrin (WZ) oder Butapyrin als 3%ige Lösung in die Therapie eingeführt. Das Produkt hat einen p_H -Wert von 8,0.

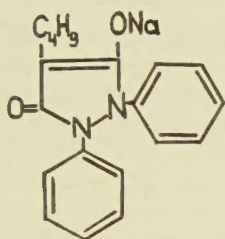
(Wilhelmi 1949, Pulver, Loewenhardt.)



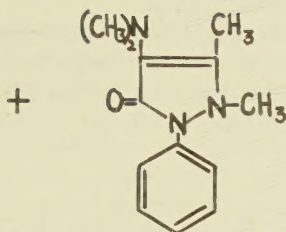
3,5-Dioxo-1,2-diphenyl-
4-n-butyl-pyrazolidin
= Butazolidin



3,5-Dioxo-1,2-diphenyl-
4-n-butyl-pyrazolidin-
Natrium = G 13871
Butazolidin-Natrium



G 13871



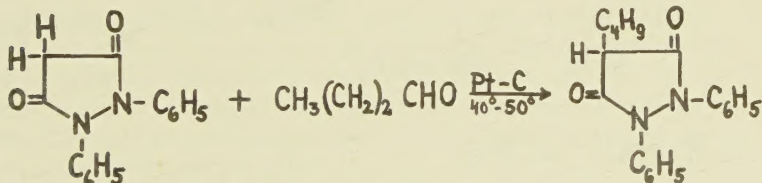
4-Dimethylamino-1-phenyl-
2,3-dimethyl-pyrazolon

Irgapyrin

2.) Darstellungsweise des Butazolidins.

Schweizer Patent Nr. 299980

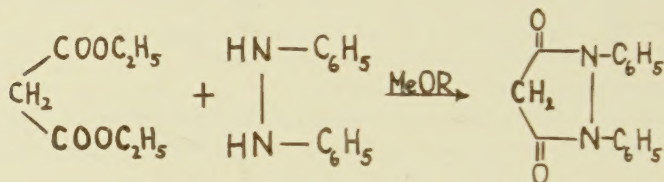
5 Teile 1,2-Diphenyl-3,5-dioxypyrazolidin werden mit 2 Teilen Butylaldehyd in Äthanol mit 0,5 Teilen Pt-Kohle-Katalysator 24 Stunden lang bei 40-50 Grad hydriert.



Der Reaktionsverlauf ist wahrscheinlich wie folgt zu erklären:
Der Aldehyd kondensiert mit der durch die zwei benachbarten Carboxylgruppen aktivierten Methylengruppe, und die dabei entstehende Oxyverbindung wird anschließend katalytisch hydriert.

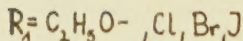
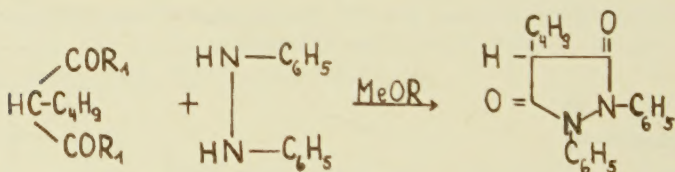
Im USA Patent Nr. 2562830

wird die Darstellung des 1,2-Diphenyl-3,5-dioxypyrazolidin geschützt; und zwar wird Malonsäurediäthylester mit Hydrazobenzol unter Verwendung von Metallalkoholaten kondensiert. Die Einführung des Butylrestes geschieht in der oben erwähnten Weise.



Im britischen Patent Nr. 646593

geht man vom Butylmalonesterderivat, das entweder das Dikarbonsäurehalogenid oder der Dikarbonsäureester sein kann, aus. Das Derivat bringt man mit Alkoholaten als Kondensationsmittel und Hydrazobenzol zur Reaktion.



Die beschriebenen Spaltungsmöglichkeiten sind für die Deutung der im Organismus erfolgenden Aufspaltung des Moleküls von Bedeutung.

3.) Das Verhalten des Butazolidins im Organismus.

Wie Burns, Rose, Chenkin, Goldman, Schulert und Brodie berichten, wird Butazolidin vom Magen-Darmtrakt vollständig resorbiert. Im Stuhl erscheinen weniger als 5% der Tagesdosis. Bei peroraler Verabreichung erreicht der Butazolidin-Plasmaspiegel bereits nach zwei Stunden ein Maximum, während bei intramuskulärer Applikation ein Höchstwert erst nach 6-10 Stunden nachgewiesen werden kann. Die Abbaugeschwindigkeit, die individuell erheblich variiert, ist verhältnismäßig langsam. Durchschnittlich werden pro Tag 20% der verabreichten Dosis inaktiviert. Auffallenderweise zeigen Patienten, die an einer Lebercirrhose leiden, keine von der normalen Schwankungsbreite abweichende Abbaugeschwindigkeit.

Auch im Tierversuch konnte Pulver nachweisen, daß das G 13871 nur sehr langsam aus dem Körper ausgeschieden wird. Er gab Kaninchen intravenös 50 mg Butazolidin pro kg Körpergewicht. Das Präparat war nach 8 Stunden noch deutlich im Plasma nachweisbar, während die gleiche Menge Dimethylaminoantipyrin bereits nach 4 Stunden vollständig abgebaut war.

Der Plasmaspiegel, der rasch ein Maximum zeigt, steigt nicht proportional der Dosierung an, sondern erreicht einen individuell verschieden hohen Grenzwert: z.B. liegt die Blutkonzentration nach Einnahme von 1600 mg Butazolidin nur wenige Prozent höher als die nach 800 mg.

Burns und Mitarbeiter haben mit Hilfe ihrer spektrophotometrischen Nachweismethode weiter festgestellt, daß nur sehr geringe Mengen des Phenylbutazone im Urin ausgeschieden werden. Sie vermuten auf Grund ihrer Messungen im UV-Spektrum drei relativ wasserlösliche Umwandlungsprodukte, deren Identifizierung bis heute noch nicht gelungen ist.

4.) Wirkungsweise und Wirkungsmechanismus des Butazolidins.

Butazolidin und das Kombinationspräparat Irgapyrin zeigen, wie an Hand von experimentellen und klinischen Untersuchungen festgestellt wurde, drei Hauptwirkungen: eine antipyretische, eine analgetische und eine antiphlogistische Wirkung (Wilhelmi 1949, Currie).

Wilhelmi prüfte die analgetische Wirkung durch elektrische Reizung der Schneidezahnpulpa an Kaninchen, die analgetische erprobte er am Colifieber-Kaninchen, und die antiphlogistische Wirkung konnte er in dem hemmenden Effekt bei der Entstehung des Ultraviolettlicht-Erythems am Meerschweinchen nachprüfen.

Der Wirkungsmechanismus des Butazolidins ist noch nicht restlos geklärt. Die Pyrazolonderivate zeigen nach Wilhelmi (1949) einen vorwiegend zentralen Angriffspunkt. "Sie hemmen hier den infektiös toxisch ausgelösten Reizzustand des Hypothalamus". Andererseits sind auch periphere Wirkungen der Pyrazole bekannt. Diese zeigen sich hauptsächlich durch Hemmung pathologisch bedingter oder experimentell erzeugter Tonus- oder Motilitätsänderungen am isolierten Organ mit glatter Muskulatur (Wilhelmi 1949, Scheiffarth und Berg). Fellinger glaubt auf Grund zahlreicher Untersuchungen (Thorn-Test, NaCl-Belastungsprobe, Vitamin C-Belastungsversuch) schließen zu können, daß die Wirkung des Butazolidins auf einer vermehrten Ausscheidung von AOTH beruht. Trotz der ähnlichen Wirkungen des Pyrazolonderivates und des Cortisons kommen Brodie und Mitarbeiter bei ihren Untersuchungen zu dem Schluß, daß der Butazolidineffekt nicht über die Nebennierenrinde geht. Denn im Gegensatz zu Cortison zeigt Butazolidin keine vermehrte Kalium- und keine anwachsende Kosteroidausscheidung.

Nach den neuesten Experimenten von Korus, Schriefers und Dirscherl, die den Abbau des Cortisons durch Schnitte und Homogenate von Mattenlebern untersuchten, konnte festgestellt werden, daß bei Zusatz von Butazolidin in therapeutischen Dosen eine Hemmung im Abbau des Cortisons auftrat. Diese Ergebnisse sprechen für eine Wirkung, die wenigstens zum Teil über das Nebennierenrindensystem geht.

5.) Harnsaureausscheidung nach Butazolidin.

Neben den Schmerzzuständen rheumatischer Genese wird Butazolidin auch bei der Arthritis urica mit gutem Erfolg angewendet. Welche Wirkungsweise hier dem Erfolg zugrunde liegt, ist bis heute noch nicht genau bekannt.

Nach zahlreichen klinischen Beobachtungen konnte bei den mit Butazolidin behandelten Gichtpatienten regelmäßig ein Abfall im Blutharnsaurespiegel festgestellt werden (Mason, Tsai Fan Yü, Sirota und Gutman, Kuzell und Mitarbeiter).

Ob nun diese Verminderung der Harnsäure im Blut mit einer vermehrten Ausscheidung im Urin Hand in Hand geht, ist nicht mit Sicherheit zu sagen. Tsai Fan Yü und Mitarbeiter verzeichneten in den meisten Fällen ihrer Gichtbehandlung einen Anstieg der Harnsäureausscheidung, der nach ihrer Ansicht die Erniedrigung der Harnsäureplasmakonzentration erklären könnte. Mason konnte bei seinen mit Butazolidin behandelten Patienten ähnliche Beobachtungen machen. Er fand bei 4 Gichtfällen sowie bei einer Paget'schen Erkrankung einen leichten Anstieg der Harnsäuretagesmenge.

Bowers beschreibt einen Todesfall nach einer Butazolidin-Therapie. Bei der Sektion zeigte sich, daß beide Ureteren mit Harnsäurekristallen verstopft waren. Im Widerspruch dazu stehen die Angaben von Kersley und Kuzell, die bei ihrem Krankengut in keinem Falle eine vermehrte Harnsäureausscheidung feststellen konnten. Kuzell und Mitarbeiter führten diese verschiedenen Beobachtungen darauf zurück, daß manche Autoren die Harnsäuremenge in mg/100 ccm angeben, statt in mg/24 Stunden. Die Urinmenge sinkt aber in vielen Fällen einer Butazolidin-Behandlung ab, die Harnsäuretagesmenge bleibt dann konstant, während die Harnsäurekonzentration pro 100 ccm ansteigt.

6.) Therapeutische Anwendung des Butazolidins.

Während man in den europäischen Ländern vorwiegend das Kombinationspräparat Irgapyrin anwendet, wird in den USA weit häufiger das Butazolidin allein verordnet. Es ist dort unter dem Namen Phenylbutazone bekannt.

Im Irgapyrin zeigen die Pyrazole Butazolidin und Pyramidon in ihrer therapeutischen Wirksamkeit einen Synergismus, während im Hinblick auf ihre Toxizität ein gewisser Antagonismus zu bestehen scheint (Wilhelmi 1950, Pulver, Grosse-Brockhoff). Belart (1955) hat an zahlreichem klinischen Untersuchungsmaterial die Beobachtung gemacht, daß unerwünschte Nebenerscheinungen nach Butazolidin häufiger auftreten als nach Irgapyrin.

Die Hauptindikationen für Butazolidin und Irgapyrin bilden die Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises (Belart 1953). Ausgezeichnete Erfolge lassen sich vor allem bei dem akuten Gelenkrheumatismus verzeichnen. Die subjektiven Symptome wie Schmerz und Fieber gehen sehr rasch zurück, Rötung und Schwellung lassen nach, die BKS normalisiert sich in kurzer Zeit. Aber auch bei den chronisch rheumatischen Infekten, Arthrosis deformans, Mb. Bechterew, Ischias und Lumbalgien, neuralgische Schmerzzustände, entzündliche Nervenkrankheiten und bei der Arthritis urica lassen sich befriedigende Ergebnisse erzielen (Gsell und Müller).

Schultze hat Irgapyrin teilweise in Kombination mit Alkaloiden bei carcinomatösen Prozessen angewendet und dabei eine ausgezeichnete Verminderung der Schmerzen und der peritumoralen Entzündung beobachtet.

Nach den Untersuchungen von Imhof und Gianoli scheint der optimal wirksame Blutspiegel bei 10 mg% zu liegen. Dieser Wert wird mit einer Dosierung von 600 mg Butazolidin pro die erreicht. Steigert man die täglichen Gaben um 200 mg, so nimmt der Plasmaspiegel nur unwesentlich zu und die therapeutischen Erfolge werden, wie Stephens berichtet, kaum merklich besser. Eine interessante, insektizide Wirkung des Butazolidins entdeckte Mooser. Einem Laboranten, der seit Jahren mit seinem Blut erfolgreich Läuse gefüttert hatte, wurden wegen einer rheumatischen Erkrankung an drei aufeinanderfolgenden Tagen je 600 mg Butazolidin injiziert. Am dritten Tag starben nach der Fütterung 600 Läuse. Man fütterte hierauf die Läuse mit Blut von Kaninchen, die ebenfalls Butazolidin erhalten hatten. Es trat derselbe Effekt ein. Das Arzneimittel scheint elektiv auf Läuse zu wirken, da sich andere Insekten weit weniger empfindlich zeigten.

Sowohl das Butazolidin als auch das Kombinationspräparat Irgapyrin sind in 3 Applikationsformen im Handel.

Butazolidin: Dragées (weiß) à 3,5-dioxo-1,2-diphenyl-4-n-butyl-pyrazolidin 0,2
Ampullen à 3,5-dioxo-1,2-diphenyl-4-n-butyl-pyrazolidin-Natrium 1,0.
Dimethylaminocet-2,6-Xylidid
(Xylgocain) 0,05 Aqu. dest. q.s. ad.
5 cm³.

- Suppositorien à 3,5-dioxo-1,2-diphenyl-4-n-butyl-pyrazolidin 0,25. Mass.suppos.q.s.
- Irgapyrin: Dragées (gelb) à 3,5-dioxo-1,2-diphenyl-4-n-butyl-pyrazolidin, Dimethylamino-phenyl-dimethyl-pyrazolon $\bar{a}\bar{a}$ 0,125.
- Ampullen . à 3,5-dioxo-1,2-diphenyl-4-n-butyl-pyrazolidin-Natrium 0,75
Dimethylamino-phenyl-dimethyl-pyrazolon 0,75
Dimethyl-aminoacet-2,6-Xylidid (Xylocain) 0,05
Aqu.dest. q.s. ad 5 cm³.
- Suppositorien à 3,5-dioxo-1,2-diphenyl-4-n-butyl-pyrazolidin, Dimethylamino-phenyl-dimethylpyrazolon $\bar{a}\bar{a}$ 0,25
Mass.suppos.q.s.

7.) Toxische Nebenerscheinungen bei der Butazolidin- und Irgapyrin-Medikation.

Bei der Vielzahl unserer Arzneimittel, die täglich vom Arzt verordnet werden, lassen sich wohl bei den meisten, wenigstens bei längerem Gebrauch eine oder mehrere unerwünschte Nebenerscheinungen beobachten. Bei den Pyrazolonen Butazolidin und Irgapyrin sind die in der Literatur bekannten toxischen Nebenerscheinungen sehr zahlreich, vielgestaltig und keineswegs immer harmlos. Belart (1955) berichtet, daß in der Weltliteratur bis April 1954 256 Mitteilungen von ernsteren Komplikationen, davon 28 Todesfälle, veröffentlicht sind.

Mezger beschreibt z.B. eine tödlich verlaufene Agranulozytose bei einer Patientin, die wegen einer rheumatischen Arthritis mit Butazolidin behandelt worden war.

Hasselmann bringt die Krankengeschichte einer Patientin, die nach 13 intramuskulären Injektionen Irgapyrin an einer universellen, exfoliativen Erythrodermie erkrankte und mit den klinischen Zeichen des Herz- und Kreislaufversagens starb.

Einen Todesfall nach einer Medikation von Irgapyrin und Neoteben veröffentlicht Dienemann. Beide Mittel sind Krampfgifte. Die Kumulation führte zum Krampfanfall mit letalem Ausgang.

Eine der häufigsten Begleiterscheinungen bei der Behandlung mit Butazolidin ist die Retention von Wasser und Kochsalz, die z.T. zu manifesten Ödemen führen kann¹⁾. Das Ausmaß der Retention ist nach Muth von der Menge der Kochsalzzufuhr und von der Größe der verabreichten Arzneimitteldosis abhängig. Harlin, Linke und Messmer kamen auf Grund verschiedener Nierenfunktionsproben zu der Ansicht, daß die Pyrazolonkörper tubulusschließende Substanzen sind, und die Ursache für eine verminderte Diurese an einer vermehrten Wasserrückresorption im Tubulusapparat liegt.

Fabre und Mach sehen in der Salz- und Wasserretention einen neurohormonalen Mechanismus mit Beteiligung der Hypophyse und des Hypothalamus.

Im allgemeinen ist diese Nebenerscheinung harmlos, zumal sie beim Absetzen der Therapie sofort wieder verschwindet. Eine Ausnahme bilden die Patienten mit dekompensierten Herzfehlern, da es hier zu lebensbedrohlichen Kreislaufstörungen kommen kann (Belart 1955).

Weitere in der Literatur angegebene Nebenerscheinungen seien im folgenden kurz aufgezählt:

Epi gastrischer Druck, Schwindel, Benommenheit, Übelkeit, Brechreiz, Erbrechen, Durchfälle. Bei intramuskulärer Anwendung sterile Abszesse, septische Eiterungen, Ischiasläsionen, die bis zu irreparablen Lähmungen führen können. Hämorrhagien an der Injektionsstelle. Exacerbationen von Magen und Duodenalgeschwüren, Blutungen im Urogenitaltrakt (wie teils letzteren werden hauptsächlich dem Butazolidin zugeschrieben). Thrombocytopenie, Anämie, Leukopenie, Agranulocytosen. Hauterscheinungen beim Irgapyrin in Form des papilliformen Arzneirexanthems, beim Butazolidin mehr als hämorrhagische Dermatitis. Bei intravenösen Gaben kann ein "grand mal" ausgelöst werden (Janerich und Junkersdorf, Belart 1955, Inhof und Gianoli, Mezger, Seidel und Knobloch, Meyler). Erwähnenswert wäre noch der sog. "Retard-Effekt", d.h. Butazolidin und Irgapyrin verursachen eine verlangsamte Ausscheidung verschiedener anderer Medikamente wie: Penicillin, PAS, Morphinum,

+) (Green und Williams, Brodie)

Codein, Parpanit (Schultze). Bei der großen Vielfalt der Nebenerscheinungen muß vor einer wahllosen und unkontrollierten Anwendung dieser neuen Medikamente gewarnt werden. Bei Magen-Darm-Ulcera, Herzinsuffizienz, Niereninsuffizienz mit Neigung zur Dekompensation, manifesten Leberschädigungen, Neigung zu allergischen Reaktionen ist daher eine Behandlung mit Butazolidin und Irgapyrin kontraindiziert (Belart 1955).

Auf unsere eigenen Erfahrungen bei der peroralen Butazolidin-Aufnahme soll im experimentellen Teil näher eingegangen werden.

8.) Nachweismethoden für das Butazolidin.

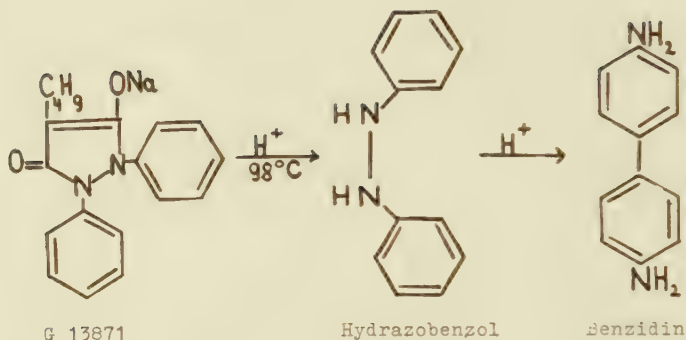
Kalvoda und Zyka titrieren das Natriumsalz des Butazolidins polarometrisch mit 0,05 n Quecksilber-perchlorat-Lösung und geben damit eine Bestimmungsmethode an, die sich lediglich auf reine, nicht aus biologischem Material isolierte Substanz erstreckt.

Zum Nachweis des Butazolidins aus biologischem Material (Plasma, Gewebe und Urin) geben Burns und Mitarbeiter eine Methode an.

Sie isolieren das Butazolidin aus angesäuertem Material durch mehrmaliges Ausschütteln mit n-Heptan, das 3% Methylalkohol enthält und entfernen dann das extrahierte Butazolidin aus dem organischen Lösungsmittel mit wäßriger Natronlauge. Anschließend messen sie spektrophotometrisch bei 265 m μ die Extinktion gegen eine aus den Reagenzien bestehende Blindlösung. Es wird dann mit einer aus Butazolidin-Reinsubstanz hergestellten Standardlösung verglichen. Die Genauigkeit der Methode beträgt ca. $\pm$ 3%. Zu bemerken ist zu dieser Methode, daß normales Plasma und Gewebextrakte einen Blindwert von 3-5 γ bzw. 10 γ pro ccm zeigen.

Pulver wies das Butazolidin auf folgende Weise nach:

Er hydrolysierte das Butazolidin mit 20%iger p-Toluolsulfosäure bei 38° im Verlauf von 6 Stunden. Das bei der Hydrolyse entstehende Benzidin wies er durch Diazotieren desselben und Kuppeln mit N,N-Dimethyl- α -naphthylamin nach.



Zur quantitativen Auswertung mißt er den Extinktionswert der Lösung innerhalb von 15 Minuten im Spektrophotometer aus. Die Bestimmungsmethode ist nicht sehr spezifisch und ihre Fehlerbreite beträgt $\pm 15\%$. Bei gleichzeitiger Anwesenheit aromatischer Amine im Blut (Sulfonamide) erhält man unbrauchbare Resultate. Dagegen werden die Analysen durch Pyrazolone oder seine Abbauprodukte in keiner Weise beeinflusst, was durch zahlreiche Kontrollanalysen belegt worden ist. Nach einer ähnlichen Methode verläuft die Bestimmung von Butazolidin nach Moss. Der Unterschied besteht nur darin, daß er mit $n\text{-H}_2\text{SO}_4$ hydrolysiert und als Kupplungsreagens n -Sulfatoacetyl- m -toluidin benutzt.

Bei der papierchromatographischen Untersuchung von Pyrazolon-derivaten hat Dickmann das Butazolidin chromatographisch identifizieren können. Er verwendet das Lösungsmittelgemisch von Patridge, das aus Butanol-Eisessig-Wasser im Verhältnis 40:10:50 besteht und chromatographiert nach der aufsteigenden Methode. Zur Sichtbarmachung der Verbindung besprüht er das Chromatogramm mit Ehrlichs Reagens (p-Dimethylaminobenzaldehyd in salzsaurer Lösung). Dabei erhält er für Butazolidin beim RF-Wert von 0,95 einen orangen Fleck, der nach längerer Entwicklungsdauer auftaucht.

C. Eigene Untersuchungen.

Da die eben angeführten Nachweismethoden eine geringe Spezifität besitzen und aus diesem Grunde eigentlich nur angewandt werden können, wenn die Einnahme von Butazolidin sicher erwiesen ist, und keine Störsubstanzen zu erwarten sind, besteht die Notwendigkeit, einen spezifischen Nachweis für diese Verbindung zu finden, zumal die Zahl von 28, innerhalb von 5 Jahren bekannt gewordenen Todesfällen, den Butazolidinnachweis für die forensische Medizin an Bedeutung gewinnen läßt.

Aus diesem Grunde befaßten wir uns mit dem Problem der Ausscheidung und des Nachweises von 3,5-Dioxo-1,2-diphenyl-4-n-butyl-pyrazolidin im Harn.

a) Harnuntersuchung nach Butazolidinaufnahme.

Mehreren gesunden Versuchspersonen wurden am Abend 600 mg Butazolidin per os verabreicht und der Urin 24 Stunden lang gesammelt. Bei 4 Personen zeigten sich außer einer Abnahme der Harnmenge keine subjektiven oder objektiven Nebenerscheinungen. Eine Versuchsperson klagte über Druckgefühl in der Magengegend und bei einer Person traten ca. 3 Stunden nach der Butazolidineinnahme Übelkeit und Erbrechen auf.

Läßt man den Urin einige Stunden stehen, so ist eine deutliche Veränderung zu beobachten. Der anfangs klare Urin wird ungefähr nach 2-3 Stunden trüb und zeigt nach weiteren 2-3 Stunden einen stark ausgeprägten, rosaroten Bodensatz bei einem p_H -Wert von 7. Zur Identifizierung dieses roten Niederschlages wurde der Urin filtriert und der Rückstand getrocknet.

Die daraufhin angestellten Löslichkeitsversuche hatten folgendes Ergebnis:

Wasser	praktisch unlöslich	
Alkohol	"	"
Chloroform-Alkohol	"	"
Amylacetat	"	"
Äther	"	"
Amylalkohol	"	"
Chloroform	"	"

Salzsäure verdünnt	praktisch unlöslich		
Benzol	wenig löslich		
Schwefelsäure verdünnt	"	"	
Wasserstoff-peroxyd	"	"	
Salpetersäure verdünnt	Lösung und Entfärbung		
Sodalösung heiß	"	"	"
Kaliumpermanganatlösung	"	"	"
Natronlauge heiß	"	"	"

b) Qualitative Untersuchung auf Harnsäure.

Da die Vermutung nahe lag, daß es sich bei dem Niederschlag um Harnsäure bzw. eines ihrer Salze (Siegelmehlsediment) handelte, wurde die Murexidprobe in folgender Form durchgeführt: Zu einer geringen Menge des Niederschlages wurden einige Tropfen konzentrierter Salpetersäure gegeben und anschließend bis zum Trocknen erwärmt. Der gelbliche Rückstand wurde mit einem Tropfen Ammoniak purpurrot, bei Zugabe von Natronlauge violett. Da diese Probe auch bei anderen Purinen positiv ausfällt, werden zur weiteren Identifizierung einige Körnchen des Niederschlages mit ca. 3 ml Sodalösung und anschließend tropfenweise mit Phosphorwolframsäure versetzt. Es trat eine Blaufärbung auf, die auf der Bildung von Mischoxyden des I- und II-wertigen Wolframs bei der Reduktion der Phosphorwolframsäure beruht.

Als letzte Methode zur sicheren Bestimmung der Substanz wurde die Kristallmorphologie herangezogen.

Hierzu wurde eine kleine Menge des Niederschlages mit Salzsäure erhitzt und langsam abgekühlt. Die auf diese Weise ausgeschiedenen Kristalle zeigten die bekannten Wetzstein-Tafel- und Tonnenformen der Harnsäure.

Aus diesen Versuchen last sich der Schluß ziehen, daß es sich bei dem auftretenden roten Niederschlag um ein Salz der Harnsäure, wohl hauptsächlich Mononatriumurat handelt. Die rote Farbe des Niederschlages ist wahrscheinlich durch gefärbte Harnbegleitstoffe bedingt.

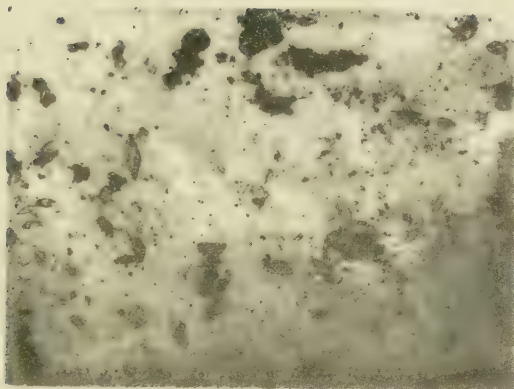


Abbildung 1: Harnsäurekristalle aus Butazolidin-Harn.

Offensichtlich wird also nach Einnahme von Butazolidin die Menge der ausgeschiedenen Harnsäure vermehrt. Da über diese Tatsache von verschiedenen Autoren widersprechende Beobachtungen gemacht wurden (Tsai Fan Yü, Sirota und Gutman, Kuzell, Kersley, Mason) sollte bei drei Versuchspersonen die Harnsäure in der Urintagesmenge bestimmt werden.

Zur quantitativen Harnsäurebestimmung wurde im einzelnen nachstehende Methodik verwendet:

c) Quantitative Harnsäurebestimmung.

(Klinische Photometrie mit dem Pulfrich-Photometer und elektrischen Photometern mit den Zeiss-S-Filtern. (Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart 1940.))

Reagenzien:

Phosphorwolframsäurereagens Merck

22%ige Sodalösung (22 g krist. Soda werden in 100 ccm Wasser gelöst).

Durchführung:

Man gibt 1 ccm Harn in ein 25 ccm-Meßkölbchen, füllt mit Wasser bis zur Marke auf, schüttelt gut durch und versetzt hierauf 2 ccm dieser 25-fachen Harnverdünnung in einem Reagensglas mit 0,5 ccm Phosphorwolframsäurereagens, 4,5 ccm Sodalösung und 8 ccm Wasser. Frühestens nach 8 Minuten, spätestens nach 20 Minuten mißt man die Lösung in 1 ccm Schichtdicke mit dem Filter S 61 gegen Wasser.

Berechnung:

$$c = 12,5 \cdot v \cdot k$$

mg Harnsäure in 100 ccm Harn

Hierbei bedeutet v den Verdünnungsfaktor des Harns.

Bei gemischter Kost beträgt die normale Ausscheidung 0,4 - 1,0 g in der Harntagesmenge.

Ist der Harn durch Salze getrübt, so klärt man durch Zugabe von 1-3 Tropfen 10%iger Natronlauge.

Bei den Versuchen wurde folgendes Ergebnis erhalten:

1. Versuch:

Nach Verabreichung von 800 mg Butazolidin wurde der Urin 24 Stunden lang gesammelt. Die Harntagesmenge betrug 750 ccm. Jede Urinportion wurde nach obiger Vorschrift behandelt und spektrophotometrisch gemessen. Bei 740 mμ trat regelmäßig ein Maximum auf. Diese Extinktion wurde zur Berechnung verwendet.

1. Portion: $c = 12,5 \cdot v \cdot k$

$$c = 12,5 \cdot 25 \cdot 0,56$$

$$c = 177,8 \text{ mg Harnsäure in 100 ccm Harn}$$

2. Portion: $c = 61,912 \text{ mg}$ " " 100 " "

3. Portion: $c = 88,9 \text{ mg}$ " " 100 " "

4. Portion: $c = 158,7 \text{ mg}$ " " 100 " "

Die Harnsäuretagesmenge beträgt 0,90 g.

2. Versuch:

Nach 600 mg Butazolidin betrug die Harntagesmenge 780 ccm.

1. Portion: $c = 139,7 \text{ mg Harnsäure in 100 ccm Harn}$

2. Portion: $c = 155,575 \text{ mg}$ " " 100 " "

3. Portion: $c = 175,450 \text{ mg}$ " " 100 " "

4. Portion: c = 171,450 mg Harnsäure in 100 ccm Harn
Die Harnsäuretagesmenge beträgt 1,13 g.

Bei diesem Versuch wurde der Urin noch weitere 24 Stunden gesammelt. Die Harnmenge betrug am 2.Tag nach der Butazolidin-verabreichung 800 ccm.

1. Portion:	<u>c = 144,12 mg</u>	Harnsäure in 100 ccm Harn			
2. Portion:	<u>c = 168,275 mg</u>	"	"	100	" "
3. Portion:	<u>c = 165,1 mg</u>	"	"	100	" "
4. Portion:	<u>c = 149,225 mg</u>	"	"	100	" "

Die Harnsäuremenge beträgt 1,21 mg.

3.Versuch:

Nach 600 mg Butazolidin betrug die Harntagesmenge 900 ccm.

1. Portion:	<u>c = 92,057 mg</u>	Harnsäure in 100 ccm Harn			
2. Portion:	<u>c = 88,9 mg</u>	"	"	100	" "
3. Portion:	<u>c = 177,47 mg</u>	"	"	100	" "
4. Portion:	<u>c = 114,3 mg</u>	"	"	100	" "
5. Portion:	<u>c = 95,25 mg</u>	"	"	100	" "

Die Harnsäuretagesmenge betrug 0,74 g.

Diese Versuche zeigen, daß bei einem gesunden Menschen nach einer Butazolidin-Medikation die Harnsäuretagesmenge an der oberen Grenze der Norm liegt, die Wasserausscheidung aber herabgesetzt ist und somit eine relativ hohe Harnsäurekonzentration erreicht wird.

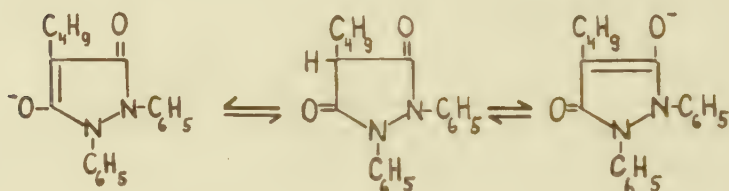
Diese Ergebnisse stimmen mit den in der Literatur gemachten Angaben von Kuzell überein (siehe Seite 7).

d) Vorversuche mit reinem Butazolidin.

Im weiteren Verlauf dieser Arbeit interessierte nun die Frage, ob das 3,5-Dioxo-1,2-diphenyl-4-n-butyl-pyrazolidin im Harn nachweisbar ausgeschieden wird (siehe Burns Seite 5). Deshalb wurden einige Vorversuche mit reinem Butazolidin ausgeführt.

Bevor jedoch auf diese Versuche weiter eingegangen wird, mögen einige Betrachtungen allgemein chemischer Art über diese Verbindung vorausgeschickt werden.

Wie aus der eingangs erwähnten Darstellung des Butazolidins hervorgeht, handelt es sich um ein an beiden Stickstoffatomen phenyliertes, zyklisches Säurehydrazid der Butylmalonsäure. Die zwischen 2 Oxygruppen eingeschlossene alkylierte Methylengruppe besitzt noch ein bewegliches Wasserstoffatom, welches im Sinne einer Keto-Enol-Tautomerie wandern kann und somit den sauren Charakter dieser Pyrazolidinverbindung bedingt.



Butazolidin wird also aus saurer Lösung mit Äther extrahierbar sein. Da in diesem Extrakt aber sämtliche organischen Säuren und Barbiturate sowie die amphoter reagierenden Derivate des Harnstoffes wie z.B. Bromural, Adalin und die Hydantione zu finden sind, mußte eine Möglichkeit gefunden werden, das Butazolidin von diesen abzutrennen.

Burns und Mitarbeiter haben bei ihren Untersuchungen über den Butazolidinspiegel im Blut, Urin und Gewebe von der Tatsache Gebrauch gemacht, daß sich die Pyrazolidinverbindung mit Petroläther ausschnitteln und somit von anderen Begleitstoffen trennen läßt.

1.) Wasserdampfdestillation und spektrophotometrische Messungen:

Weinig, Schmitt und Schmidt geben eine andere Art der Abtrennung von eventuell störenden Substanzen an. In einer Arbeit über den Beweiswert der Averell-Norris-Reaktion stellen sie fest, daß von einer großen Zahl therapeutisch wichtiger Stoffe mit einer positiven Averell-Norris-Reaktion nur 3 wasserdampflich sind. Darunter neben Novalgin, Kr 132 +)

- +) Kr 132 ist ein 1-4-Diphenyl-3,5-dioxypyrazolidin. Eine Kombination von Kr 132 und Aminophenazon ist das Rheumatherapeuticum "Oşadrin" der Firma Knoll AG. Ludwigshafen.

auch das Butazolidin. Von dieser Tatsache wurde bei unseren weiteren Versuchen Gebrauch gemacht.

3,5-Dioxo-1,2-diphenyl-4-n-butyl-pyrazolidin wurde im sauren Medium wasserdampfdestilliert. Das Destillat mit einer Butazolidinkonzentration von 500 γ % wurde alkalisch gemacht und spektrophotometrisch gemessen. Dabei wurden die für Butazolidin-Natrium charakteristischen Absorptionskurven erhalten (Abb. 2).

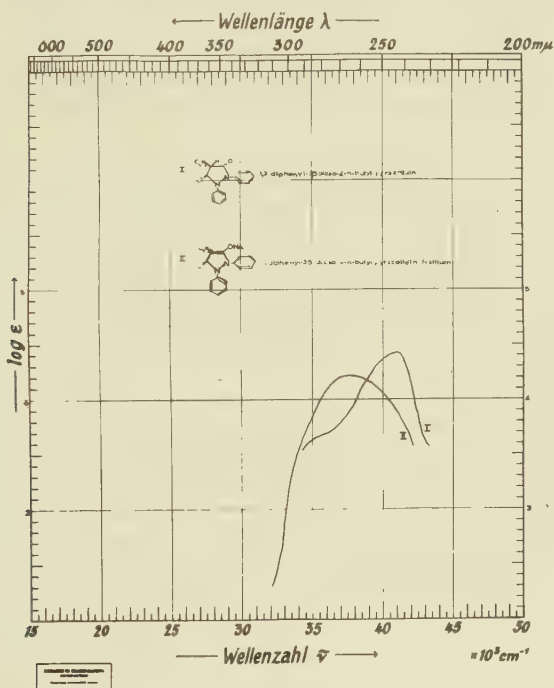


Abbildung 2: Absorptionsspektren von Butazolidin und Butazolidin-Natrium.

- I.: 1,2-diphenyl-3,5-dioxo-4-n-butyl-pyrazolidin in Chloroform bei 20 Grad gemessen. Maximum bei 245 m μ .
- II.: 1,2-diphenyl-3,5-dioxo-4-n-butyl-pyrazolidin-Natrium bei 20 Grad gemessen. Maximum bei 265 m μ .

Ein nach peroraler Gabe von 0,6 g Butazolidin gewonnener Urin wurde auf die gleiche Art und Weise wasserdampfdestilliert. Bei der spektrophotometrischen Untersuchung ergab sich ein Maximum von beachtlicher Extinktion ($E = 0,12$) bei einer Wellenlänge von 265 m μ , während der Leerharn bei derselben Wellenlänge eine Extinktion von 0,12 zeigte. Es lag der Verdacht nahe, daß es sich dabei um ausgeschiedenes Butazolidin handelt. Um diese Frage einwandfrei zu klären, mußte nun ein spezifischer Nachweis für diese Verbindung gefunden werden.

2.) Papierchromatographie:

Das im Jahre 1944 von Consden, Gordon und Martin gefundene Verfahren der Papierchromatographie hat sich auf vielen Gebieten, wo üblichen analytischen Verfahren der Erfolg versagt blieb, bestens bewährt. Daher wurde diese Methode auch für die weiteren Untersuchungen benutzt.

In einer Arbeit von Dihlmann über Pyrazolone hat der Autor unter anderen auch Butazolidin papierchromatographisch untersucht. Er arbeitete nach der aufsteigenden Methode und verwendete das Lösungsmittelgemisch von Patridge, das aus Butanol, Eisessig, Wasser (40 : 10 : 50) besteht. Dabei stellte er für diese Pyrazolidinverbindung einen R_f -Wert von 0,93 fest. Da bei diesen hohen R_f -Werten eine gute Identifizierung und Unterscheidung von anderen Substanzen nicht mehr möglich ist, wurden folgende Lösungsmittelgemische auf ihre Verwendbarkeit geprüft.

Die Tabelle zeigt die Ergebnisse dieser Versuche (Tabelle 1).

α Lösungsmittelgemische:

Rf	LMG 1	LMG 2	LMG 3	LMG 4	LMG 5	IMG 6	IMG 7	IMG 8	LMG 9	LMG 10	LMG 11
1,0											
0,9											
0,8											
0,7											
0,6											
0,5											
0,4											
0,3											
0,2											
0,1											
0,0											

IMG = Lösungsmittelgemisch

Tab.1

IMG 1 : Wasser/n-Butanol ges.

IMG 2 : n-Butanol/Wasser ges.

IMG 3 : n-Butanol/Morpholin/Wasser 3 : 1 : 4

IMG 4 : nButanol/Morpholin/Wasser/Äthylenglykol 4,5:1,5:2:1

IMG 5 : Ethanol/Ammoniak/Wasser 3 : 1 : 4

IMG 6 : Chloroform/Alkohol 8 : 2

IMG 7 : Alkohol/Chloroform 8 : 2

IMG 8 : Isopropanol/Chloroform/Ammoniak 4,5 : 4,5 : 1

IMG 9 : Butanol/Ameisensäure/Wasser 12 : 1 : 7

LMG 10: Butanol/Ammoniak/Wasser 20 : 1 : 7

LMG 11: Wasser/Isobutanol ges.

Wie aus dem obenstehenden Schema ersichtlich ist, wurden bei diesen Lösungsmitteln keine zufriedenstellenden Rf-Werte erhalten, da das Butazolidin entweder bis zur Front lief, einen Rf-Wert von 0,95-1,0 gab, oder am Startfleck sitzen blieb. Das einzige Lösungsmittelgemisch, das einen annähernd verwertbaren Rf-Wert lieferte, war Wasser mit Isobutanol gesättigt ($R_f = 0,8-0,9$). Die Identifizierung geschah durch Betrachtung der Chromatogramme im filtrierte UV-Licht von ca. 254 m μ . Dabei gab sich das Butazolidin durch eine starke Absorption zu erkennen.

B) Indikatoren: Versuche, diese Verbindung durch Besprühen mit einem Reagens sichtbar zu machen, schlugen fehl. Es wurden hierzu folgende Reagenzien verwendet: Eisen-3-chlorid, Quecksilber-1-nitrat, Muniers Reagens, Millons Reagens, Bromkresolgrün, Ninhydrin, Natrium-3-naphthochinon-sulfonat und Ehrlichs Reagens. Die Beobachtung von Dinlmann, daß Butazolidin mit Ehrlichs Reagens in salzsaurer Lösung eine orange Färbung geben soll, konnte nicht bestätigt werden.

Da das 1,2-dimethyl-3,5-dioxy-4-n-butyl-pyrazolidin als solches nicht anfärbbar war, lag der Gedanke nahe, daß vielleicht eines seiner Derivate mit den von uns verwendeten Sprühreagenzien farbige Verbindungen liefern würde.

Als Derivate kommen vor allem das Oxim, das 2,4-Dinitro-phenylhydrazon und eventuell das Xanthogenat in Frage. Da aber die Darstellungsmethoden für diese Verbindungen keine quantitativen Ergebnisse bringen, ist es also fraglich, ob beim Vorliegen von Gamma-ten in der Pyrazolidinverbindung diese Derivate in nachweisbarer Menge zu erhalten sind. So wurde angeregt von der Tatsache, das sich Spicedrin, Benzecarin, Theocromin, Pyridoxin sowie Sulfonamide auf dem Papier ethylieren und durch Besprühen mit Muniers Reagens sichtbar machen lassen (Grüne), folgender Versuch unternommen:

Das entwickelte Butazolidin-Papierchromatogramm wurde mit 10%iger wäßriger Kaliumcarbonatlösung besprüht, getrocknet, anschließend mit Dimethylsulfat benetzt und 10 Minuten auf 90°C erhitzt. Dabei reagiert das Butazolidin in seiner Enolform und es erfolgt eine Methylierung an einem Sauerstoffatom. Beim Besprühen mit

Muniers Reagens zeigte sich ein oranger Fleck (Rf-Wert = 0,95), der nach längerer Zeit ins Braune abbläst. Es konnten auf diese Weise noch 10 γ Butazolidin nachgewiesen werden.

Wie schon erwähnt, läßt sich Butazolidin genau wie die Barbiturate aus weinsaurer Lösung ausschütteln. Es unterscheidet sich aber von diesen dadurch, daß es mit Quecksilber-I-nitrat nicht reagiert und sich nach der Methylierung mit Muniers Reagens sichtbar machen läßt.

Da kein geeignetes Lösungsmittelgemisch für Butazolidin gefunden werden konnte, wurden die für Alkaloide, Barbiturate und Fettsäuren verwendeten Standardlösungsmittelgemische⁺) auch für Butazolidin verwendet.

Dabei wurde die Tatsache, daß Butazolidin bis zur Lösungsmittelfront läuft, in Kauf genommen.

Für die folgenden Versuche wurde das Lösungsmittelgemisch Butanol, mit 1,5 n Ammoniak gesättigt, verwendet (Brown und Hall). Burns und Mitarbeiter haben beobachtet, daß Phenylbutazone in ganz geringen Mengen sowohl als freie Substanz als auch als Glucuronid im Urin ausgeschieden wird.

Bei unseren Versuchen mit der Wasserdampfdestillation machten wir die Beobachtung, daß eine sehr starke Absorption im Bereich von 265 μ , die unter anderem auch für Butazolidin charakteristisch, aber nicht spezifisch ist, auftrat.

Das scheint nun im Widerspruch zu den Beobachtungen der oben zitierten Autoren zu stehen, die nur ganz geringe Mengen Butazolidin im Urin fanden (siehe Seite 5).

e) Harnextraktionen.

Es wurden daher 400 ccm Harn, der nach 0,6 g Butazolidin gewonnen wurde, im weinsaurer Milieu mit der doppelten Menge Äther erschöpfend extrahiert, mit Natriumsulfat getrocknet und über dem Wasserbad abgedampft. Es wurden dabei ca. 10-15 mg eines

+ a) "Jatzkewitz"-Gemisch: Butanol, HCOOH, Wasser
12 : 1 : 7

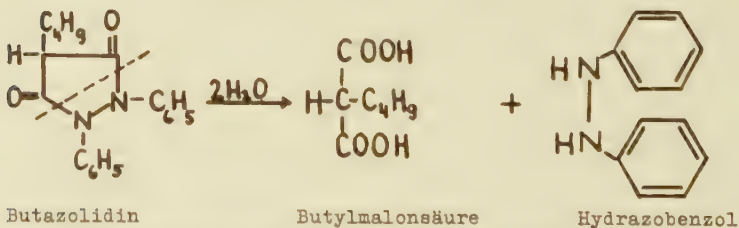
b) Ammoniakgemisch: Butanol, NH₃, Wasser
20 : 13 : 7

rötlich braunen Extraktückstandes gewonnen. Dieser wurde in 5 ccm ammoniakalischen Wasser gelöst und von dieser Lösung 0,1 ccm auf ein Papierchromatogramm aufgetragen. Das Chromatogramm wurde in dem von Brown und Hall angegebenen Lösungsmittelgemisch entwickelt. Dabei ergaben sich in diesem Extrakt keine Anhaltspunkte für das Vorhandensein von Butazolidin, da weder die bei einem Rf-Wert von 0,95-1 auftretende Absorption vorhanden war, noch durch Methylieren mit Dimethylsulfat und anschließendem Besprühen mit Muniers Reagens ein oranger Fleck beobachtet werden konnte.

Unzersetztes Butazolidin konnte demnach im Harn nicht nachgewiesen werden, obwohl die von uns entwickelte, sehr empfindliche Nachweismethode (Methylieren auf dem Chromatogramm und anschließendes Besprühen mit Muniers Reagens) kleinste Mengen (10 γ) zu erfassen gestattet.

f) Präparative Untersuchungen zum Nachweis von möglichen Butazolidin-Stoffwechselprodukten.

Es ergab sich nun die Frage, ob der Pyrazolidinring im Körper im Sinne einer hydrolytischen Spaltung der C-N-Bindung abgebaut wird; dabei ist, wenn man folgenden Aufspaltungsmechanismus annimmt, Butylmalonsäure und Hydrazobenzol zu erwarten.



Die Butylmalonsäure zeigt wie alle Malonsäurederivate die Eigenschaft, sehr leicht dekarboxyliert zu werden.

Da aber Thomas und Kalbe feststellten, daß Malonsäure im Hundeharn auftritt, wurden trotzdem die papierchromatographischen Untersuchungen auf diese Substanz ausgedehnt.

g) Synthese von Butylmalonsäure.

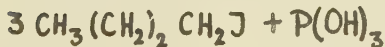
Zur Durchführung der Untersuchung wurde Butylmalonsäure über das Butyljodid, das mit Natriummalonsäurediäthylester kondensiert wurde, hergestellt (Bogert und Slocum, Adams und Marvel).

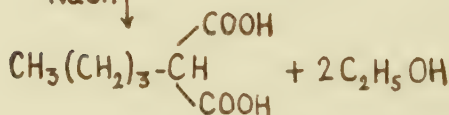
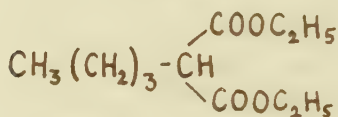
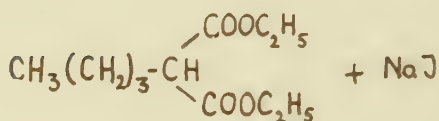
Im einzelnen wurde folgendermaßen vorgegangen:

Synthese von Butyljodid: 8 g roter Phosphor und 0,5 g weißer Phosphor wurden im Rundkolben mit 80 g Butanol überschüttet. Sodann wurden unter kräftigem Rühren 100 g fein gepulvertes Jod zugegeben. Dabei wurde mit kaltem Wasser gekühlt.

Nachdem die Reaktion abgeklungen war, wurde das Reaktionsgemisch am Rückfluß 2 Stunden auf 175°C erhitzt. Danach wurde vom Phosphor abfiltriert, die ölige Flüssigkeit mit Wasser ausgeschüttelt, um nicht umgesetztes Butanol zu entfernen, und nach Abtrennung der wäßrigen Schicht mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Anschließend wurde destilliert und die Fraktion zwischen 126° und 129°C aufgefangen. Die Ausbeute an Butyljodid: 92 g.

Synthese von Butylmalonsäure: Zu 50 ml absolutem Alkohol wurden 3 g Natrium gegeben. Anschließend wurden unter Umrühren und Kühlen 16 g Malonsäurediäthylester zugetropft. Dann wurden im Verlauf von einer halben Stunde 18,5 g Butyljodid tropfenweise zugegeben. Nachdem das Reaktionsgemisch 2 Stunden auf dem Wasserbad bis zur neutralen Reaktion erhitzt worden war, wurde der Alkohol abdestilliert. Der Rückstand wurde dann in das gleiche Volumen Wasser geschüttet, die ölige Schicht abgetrennt und mit Natriumsulfat getrocknet. Das Öl (18 g) wurde mit 30%iger Natronlauge auf dem Wasserbad verseift. Danach wurde mit Schwefelsäure vorsichtig angesäuert und die Lösung mit Äther ausgeschüttelt.





Die auf diese Weise erhaltene alkylierte Malonsäure hatte nach dem Umkristallisieren aus Petroläther einen Schmelzpunkt von $100^\circ-101^\circ\text{C}$. Sie ist also mit der in der Literatur erwähnten (Beilstein) Butylmalonsäure identisch.

h) Papierchromatographischer Nachweis von Butylmalonsäure und Capronsäure und Vergleiche mit Butazolidinharnextrakten.

Nach Verabreichung von 600 mg Butazolidin wurden 1000 ccm Harn gesammelt, mit Weinsäure angesäuert, in 3 Portionen je mit der doppelten Menge Petroläther extrahiert und der Petroläther über dem Wasserbad abgedampft. Es wurden 5-8 mg eines schwach gelblichen Extraktückstandes erhalten. Der wäßrige Rückstand der Petrolätherausschüttelung wurde mit Äther extrahiert, mit Natriumsulfat getrocknet und über dem Wasserbad abgedampft.

Die Menge des Extraktrückstandes betrug ungefähr 3 mg, die Farbe war rötlichbraun.

Beide Extrakte, sowohl der Petroläther- als auch der Ätherextrakt wurden in 5 ccm ammoniakalischen Wasser aufgenommen und davon 0,1 ccm auf ein Papierchromatogramm gesetzt. Die synthetisierte Butylmalonsäure wurde auf dasselbe Chromatogramm aufgetragen und dieses in dem Lösungsmittelgemisch Butanol mit 1,5 n Ammoniak gesättigt entwickelt. Nach dem Trocknen wurde das Chromatogramm mit einer Bromkresolgrünlösung besprüht, die auf folgende Weise hergestellt wurde:

40 mg Bromkresolgrün in 100 ml Wasser gelöst und mit einigen Tropfen Natronlauge bis zur Blaufärbung versetzt (Brown und Hall). Dabei ergab sich für die Butylmalonsäure beim Rf-Wert von 0,03-0,13 ein gelb gefärbter Fleck.

Im weinsauen Ätherextrakt von Butazolidin-Harn konnte beim etwa gleichen Rf-Wert eine ähnliche Gelbfärbung beobachtet werden. Da sich der Rf-Wert nur sehr wenig vom Startpunkt abhebt, war auf diese Weise eine einwandfreie Identifizierung nicht möglich.

Wir machten uns daher die Tatsache zu nutze, daß Butylmalonsäure beim Erhitzen auf 150°C in Capronsäure und CO₂ zerfällt (Beilstein).

10 mg eines weinsauen Ätherextraktstückes von Butazolidinharn wurde deshalb in wenig Äther (2 ccm) aufgenommen, in ein Reagensglas gegeben und nach Abdampfen des Äthers 30 Minuten im Ölbad auf 150°C erhitzt. Auf diese Weise wurden ca.

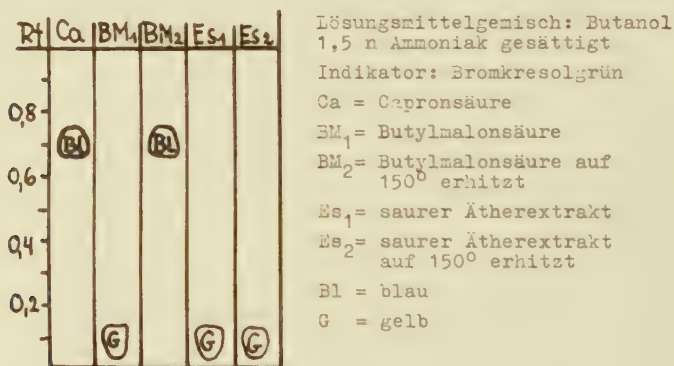
8-9 mg einer braunen schmierigen Substanz erhalten, von der ungefähr 100 μ auf ein Papierchromatogramm aufgetragen wurden.

Zum Vergleich wurde der Rückstand, der auf die gleiche Art und Weise behandelten Butylmalonsäure aufgetragen. Beim Entwickeln mit dem genannten Gemisch und anschließendem Besprühen mit Bromkresolgrün wurde bei der Vergleichssubstanz einwandfreie Capronsäure erhalten (Rf-Wert = 0,62), während bei dem Analysenrückstand keine Anhaltspunkte für das Vorhandensein von Capronsäure gefunden werden konnten. Aus diesem Ergebnis kann man also schließen, daß n-Butylmalonsäure als eventuelles Hydrolysenprodukt nicht in nachweisbaren Mengen im Harn auftritt. Die Mög-

lichkeit, daß die Butylmalonsäure im Körper dekarboxyliert worden ist, läßt im Harn Capronsäure erwarten. Aber auch diese konnte nicht gefunden werden.

Trotz dieser negativen Untersuchungsergebnisse ist die Aufspaltung in oben erwähntem Sinne durchaus möglich, da ja die Butylmalonsäure durch Dekarboxylierung in Capronsäure übergehen kann und diese wiederum über das Coenzym A der β -Oxydation unterliegt und dann als Coenzym A -Azetat im Zitronensäurezyklus vollständig zu CO_2 oxydiert wird und deshalb nicht mehr nachweisbar ist (Lynen und Reichert).

Abbildung 3:



i) Nachweis von Hydrazobenzol, Azobenzol und Benzidin in Butazolidinharnextrakten.

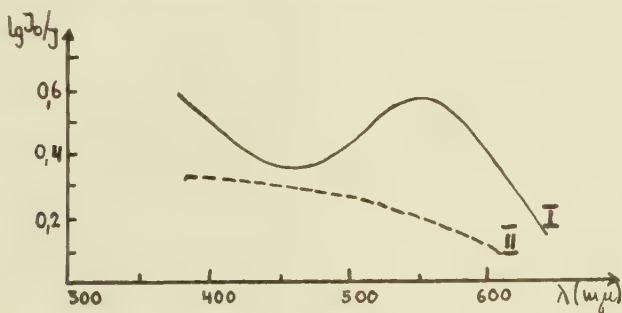
Es ergab sich nun also auch die Aufgabe, nach dem Hydrazobenzol oder dessen Umwandlungsprodukt zu suchen.

Aus diesem Grunde wurde als Vorprobe die Reaktion nach Averell-Norris durchgeführt, um zu sehen, ob in dem Harn, der nach einer Butazolidinmedikation ausgeschieden wird, ein diazotierbarer, aromatischer Aminokörper vorhanden ist. Dabei ergab sich ein positiver Ausfall der Probe im Butazolidinharn, während im Nor-

malharn offenbar kein diazotierbarer Aminokörper in nennenswerter Menge vorhanden ist.

Im einzelnen wurde folgendermaßen vorgegangen: Butazolidinharn wurde im weinsauren Medium mit Chloroform ausgeschüttelt. Nachdem das organische Lösungsmittel vorsichtig abgedampft worden war, wurden die auf diese Weise erhaltenen Extraktückstände in 10 ml Wasser aufgenommen und mit 1 ml einer 0,2%igen Natriumnitritlösung in n/10 HCl versetzt und gut umgeschüttelt. Nachdem die Lösung 10 Minuten gestanden hatte, wird 1 ml einer 2,5%igen Amidosulfonsäure zugesetzt und wieder gut geschüttelt. Nach weiteren 10 Minuten wurde dann die Lösung im Spektrophotometer ausgemessen. Im sauren Butazolidinharnextrakt fiel die Probe positiv (blauviolette Färbung) aus, während im alkalischen und bikarbonatalkalischen Extrakt ebenso wie in den Extrakten des Normalharnes keine Anhaltspunkte für die Anwesenheit von diazotierbaren Aminen zu finden war.

Abbildung 4 zeigt die Kurven für Butazolidinharn (I) und Normalharn (II) nach Farbentwicklung der Averell-Norris-Reaktion.



Nun wurden die 3 Butazolidinharnextrakte mit Hydrazobenzol, dem aus diesem in Säure entstehenden-Benzidin, sowie Azobenzol als Vergleichssubstanzen papierchromatographisch untersucht. Es wurde das Lösungsmittelgemisch von Brown und Hall verwendet. Dabei wurden folgende Beobachtungen gemacht: Benzidin zeigt bei einem Rf-Wert von 0,55 im filtrierten UV-Licht eine rötliche Fluoreszenz und gibt mit Eisen-III-chlorid besprüht einen blauen

Fleck, während Azobenzol beim Rf-Wert von 0,7 als gelber Fleck auftritt, der im UV-Licht ockerfarben fluoresziert.

Das Hydrazobenzol ist als solches papierchromatographisch nicht nachweisbar, da es beim Auftragen am Startfleck und Trocknen durch den Luftsauerstoff zu Azobenzol oxydiert wird.

Beim Vergleich der Harnextraktrückstände mit diesen Substanzen konnte weder Benzidin noch Azobenzol festgestellt werden.

j) Nachweis unbekannter Substanzen im Harn nach Butazolidinaufnahme.

Da nun eine Erklärung für den positiven Ausfall der Averell-Norris-Reaktion im sauren Ätherextrakt von 400 ccm Butazolidinharn gesucht werden mußte, wurde dieser in Wasser aufgenommen und weinsauer mit Petroläther und Äther ausgeschüttelt. In gleicher Weise wurden auch 400 ccm Normalharn, der von einer anderen Versuchsperson stammte, behandelt. Abbildung 5 zeigt das entwickelte und mit diazotierter Sulfanilsäure besprühte Papierchromatogramm.

MG. Butanol 45 m NH₃ ges.
 • reagiert: Diazot. Sulfanilsäure



LH = Normalharn
 Bu = Butazolidinharn
 Pw = weinsaurer Petrolätherextrakt
 Aw = weinsaurer Ätherextrakt
 abs= Absorption
 bl = blaue Fluoreszenz

Abbildung 5

Vergleicht man nun das Chromatogramm des Normalharnes mit dem des Harnes nach Butazolidineinnahme, so stellt man im Petrolätherextrakt 3 Substanzen und im Ätherextrakt 1 Substanz fest, die sich im Normalharn nicht befindet. In Abbildung 5 mit a-Rf=0,05, b-Rf=0,83, c-Rf=0,24, d-Rf=0,12 bezeichnet. Im Petroläther findet sich bei a und b ein rosaroter Fleck, bei c macht sich im filtrierte UV-Licht eine starke Absorption be-

merkbar. Im Ätherextrakt tritt bei d eine Substanz auf, die sich mit diazotierter Sulfanilsäure braun färbt.

Schon Burns und Mitarbeiter haben in ihrer Arbeit über den Butazolidinspiegel im Serum und Harn die Vermutung geäußert, daß 3 Abbauprodukte des 1,2-Diphenyl-3,5-dioxo-4-n-butyl-pyrazolidin im Harn auftreten. Sie kamen zu diesem Schluß durch die Abweichung der Absorptionskurve von der normalen Butazolidinkurve.

Uns scheint es nun geglückt zu sein, diese 3 Substanzen als vermutliche Abbauprodukte des Butazolidins papierchromatographisch zu erfassen. Eine Identifizierung ist noch nicht gelungen.

Zum Unterschied von oben genannten Autoren, die im Harn geringe Mengen Butazolidin nachgewiesen haben, gelang uns, wie vorher schon erwähnt, bei Verabreichung von 600 mg Butazolidin pro die der papierchromatographische Nachweis von Butazolidin im Harn nicht. Bei späteren Versuchen konnten wir jedoch feststellen, daß bei einer höheren Dosierung (800-1000 mg Butazolidin täglich), die mehrere Tage hindurch fortgeführt wurde, eine Butazolidinausscheidung auftrat. Möglicherweise handelt es sich bei der auf dem Chromatogramm bei d erscheinenden aber nicht mit Butazolidin identischen Substanz um den Körper, den Burns und Mitarbeiter spektrophotometrisch gemessen haben.

Untersuchungen für die weitere Identifizierung der auf Butazolidin-Ausscheidungsprodukte verdächtigen Substanzen wurden nicht in Angriff genommen.

Es wurde aber noch versucht zu erklären, ob die auf diazotierte Sulfanilsäure ansprechenden Substanzen aromatische Amine oder Phenole darstellen; denn nach Mossfeld reagiert diazotierte Sulfanilsäure mit beiden Stoffgruppen. Von der Tatsache ausgehend, daß man primäre aromatische Amine auf dem Papier diazotieren kann (Ekman), machten wir bei unseren weiteren Versuchen Gebrauch. Die Papierchromatogramme mit den aufgetragenen Butazolidinextrakten wurden mit einer 2%igen Natriumnitritlösung in n/10 Salzsäure und anschließend mit einer 1%igen Lösung von (1-Naphtyl) aethylendiamin-dichlorid besprüht. Dabei zeigte sich überraschenderweise nur im Ätherextrakt bei einem Rf-wert von 0,19 ein schwach violetter Fleck. Ein weiterer ganz schwach gelblicher Fleck trat nach ungefähr 5 Stunden im Petrolätherextrakt bei einem Rf-wert von 0,35 auf.

Bei diesen nun insgesamt 6 papierchromatographisch erfaßten, unbekannten Substanzen könnte es sich möglicherweise um Stoffwechselprodukte des Butazolidins handeln. Allerdings muß nach einer Butazolidinverabreichung auch eine vermehrte Ausscheidung von körpereigenen, sonst nicht nachweisbaren Substanzen in Betracht gezogen werden.

Für die Identifizierung der genannten unbekannten Substanzen ist eine Konstitutionsaufklärung erforderlich, wofür wesentlich größere Untersuchungsmengen notwendig sind, als im Rahmen dieser Arbeit zu beschaffen waren.

Die Untersuchungen wurden deshalb damit abgeschlossen.

Zur Papierchromatographie wurde das Filterpapier Nr.2043 b der Firma Schleicher und Schüll verwendet.

Die Lichtabsorptionsmessungen wurden mit einem Zeiß-Opton-Spektrophotometer mit Monochromator M_4Q in 1 cm Küvetten durchgeführt.

Der Firma Geigy sei an dieser Stelle für die Zusendung von reinem 1,2-diphenyl-3,5-dioxo-4-n-butyl-pyrazolidin und für die Überlassung von Literatur gedankt.

Meinen besten Dank sage ich Herrn Präparator O.Opitz für die Ausführung der Photographien.

D. Zusammenfassung.

1. Butazolidin und sein Kombinationspräparat Irgapyrin (Butazolidin und Pyramidon) haben als gute Antirheumatica in der heutigen Chemotherapie eine weite Verbreitung gefunden. In der Gerichtsmedizin spielen diese Präparate insofern eine Rolle, als sie bei toxikologischen Untersuchungsfällen entweder den Nachweis von Giften stören können oder selbst, sei es durch Mißbrauch, Überempfindlichkeit oder medizinale Vergiftung zu erheblichen Schäden, sogar zu letalem Ausgang führen können.

2. Die Verträglichkeit der Pyrazole ist im allgemeinen gut, jedoch sind in einem Zeitraum von 5 Jahren immerhin 28 Todesfälle bekannt geworden. Die toxischen Nebenerscheinungen sind sehr vielgestaltig, von harmlosen Übelkeiten bis zu schwersten Agranulocytosen.

Diese neuen Präparate besitzen vor allem drei Hauptwirkungen: eine antipyretische, eine analgetische und eine antiphlogistische. Der Wirkungsmechanismus ist noch nicht restlos geklärt. Es werden sowohl zentrale als auch periphere Wirkungen und Wirkungen über das Nebennierenrindensystem in Betracht gezogen. Butazolidin wird fast vollständig resorbiert, erreicht rasch ein Maximum der Plasmakonzentration und zeigt im Gegensatz zu Pyramidon eine sehr langsame Eliminationsgeschwindigkeit. Eine Butazolidintherapie hat fast regelmäßig eine Kochsalz- und Wasserretention zur Folge, die bis zu Ödemen führen kann, und nach Absetzen der Behandlung restlos verschwindet.

Über die Ausscheidung von reinem Butazolidin berichtet Burns. Er fand kleinste Mengen davon im Urin, sowohl als freie Substanz als auch als Glucuronid. Weiter vermutet er auf Grund seiner spektrophotometrischen Messungen im Harn 3 Butazolidinstoffwechselprodukte.

3. In der Literatur sind bisher 5 Nachweismethoden für das Butazolidin bekannt, wobei die Methoden nach Pulver und Moss auf einer Säurehydrolyse des Butazolidins und Nachweis des entstandenen Benzidins beruhen.

Burns mißt das aus biologischem Material isolierte Butazolidin spektrophotometrisch im UV-Licht bei 265 μ . Eine Bestimmungsmethode - und zwar Titration von Butazolidin mit Quecksilber-perchloratlösung - geben Kalyoda und Zyka an. Auf diese Weise kann aber nur reines Butazolidin unspezifisch nachgewiesen werden.

Die papierchromatographische Methode von Dihlmann, der nach Besprühen des Butazolidin-Chromatogramms mit Ehrlichs Reagens einen orangen Fleck erhält, konnte von uns nicht bestätigt werden.

Bei der von uns entwickelten papierchromatographischen Methode wurde das Butazolidin durch Methylieren mit Dimethylsulfat in ein mit Muniers Reagens anfärbares Derivat übergeführt.

Bei einem R_f -Wert von 0,95-1,0 wird dann ein oranger Fleck sichtbar. Diese Methode scheint für einen spezifischen Nachweis von reinem Butazolidin in Mäusen bis zu 10 γ traubar zu sein.

4. Im Harn konnten wir auf diese Weise bei Verabreichung von 0,6 g /die kein unzersetztes Butazolidin nachweisen.
5. Bei unseren Versuchen über die quantitative Ausscheidung von Harnsäure nach Butazolidin-Aufnahme kamen wir zu dem Ergebnis, daß die Harnsäuretagesmenge zwar in normalen Grenzen bleibt, aber infolge Verringerung der Wasserausscheidung die relative Harnsäurekonzentration ansteigt.
6. Da wir im Harn kein unzersetztes Butazolidin nachweisen konnten, wurden Versuche zum Nachweis von möglichen Umwandlungsprodukten durchgeführt. Butylmalonsäure, Capronsäure, Azobenzol und Benzidin wurden mit Hilfe der Papierchromatographie versucht nachzuweisen, da sich theoretisch aus dem Butazolidinmolekül Spaltungsmöglichkeiten in die genannten Substanzen ergeben könnten. Es ist uns bei der Aufnahme therapeutischer Butazolidindosen (600 mg pro Tag) nicht gelungen, eine dieser Verbindungen mit Sicherheit nachzuweisen.

7. Durch papierchromatographische Trennung der Rückstände verschiedener Harnextrakte (Petroläther- und Ätherextrakt), die nach Butazolidinaufnahme gewonnen wurden, konnten durch Vergleich mit entsprechend hergestellten Normalharnextrakten Anhaltspunkte für das Vorhandensein mehrerer unbekannter Substanzen gefunden werden, wobei es sich möglicherweise um Ausscheidungsprodukte des Butazolidins (Butazolidin-Metaboliten) handelt. Die Identifizierung einzelner aus dem Abbau des Butazolidin-Moleküls stammender Substanzen war im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich.
8. Die Ergebnisse bedürfen einer Nachprüfung an größerem Material, bevor die angegebene Methodik in der forensisch-toxikologischen Praxis angewendet werden kann.

An dieser Stelle mochte ich Herrn Prof. Dr. Dr. E. Weinig für die Überlassung des Themas und die Durchsicht der Arbeit ergebenst danken.

Herrn Dr. Gg. Schmidt danke ich herzlich für die Förderung bei der Durchführung der Arbeit.

Ebenso danke ich Herrn Lebensmittelchemiker H. Sacher für die Hilfe bei den chemischen Synthesen.

Literaturverzeichnis.

- Adams, R., u.
C.S.Marvel Organic Chemical Reagents. Reagents
from n-Butyl Alcohol.
J.Americ.Chem. Soc. 42, 310 (1920)
- Averell, P.R., u.
M.V. Norris Estimation of Small Amounts of o,o-
Diethyl o,p-Nitrophenyl-Thiophos-
phate.
Analyt. Chem. 20, 753 (1948)
- Beilstein Handbuch der organ. Chemie 2, 673
4. Aufl.
- Belart, W. Butazolidin als Antirheumaticum.
Dtsch.Med.Wschr. 78, 129 (1953)
- Belart, W. Nebenwirkungen von Irgapyrin und
Butazolidin.
Dtsch.Med.Wschr. 80, 392 (1955)
- Bogert, H.T., u.
E.E.Slocum The Preparation of Various Aliphatic
Halides And Halohydrin Compounds.
J.Americ.Chem.Soc. 46, 764 (1924)
- Bowers, V.H. British Medic.Journal 1, 617 (1953)
- Brodie, E.B.,
E.W. Lowman,
J.J. Burns, P.R.Lee,
T. Chenkin,
A. Goldman,
u. Weiner, u. J.M. Steele Observations on the Antirheumatic
and Physiologic Effects of Phenyl-
butazone (Butazolidin) and Some
Comparisons with Cortisone.
Americ.J. of Med. 2, 181 (1954)
- Brown, F., u.
E.P. Hall Separation of Carboxylate Ions on
the Paperchromatogram.
Nature 166, 86 (1950)
- Burns, J.J.,
R. K. Rose,
T. Chenkin,
A. Goldman,
A. Schullert, u.
E.B. Brodie The Physiological Disposition of
Phenylbutazone (Butazolidin) in Man
and a Method for its Estimation in
Biological Material.
J.Pharmacol. Exper. Therap. 109,
346 (1953)
- Consden, R.,
A.H. Gordon, u.
A.I.P.Martin Qualitative Analysis of Proteins:
A Partition Chromatographic
Method Using Paper.
Biochem. J. 38, 224 (1946)
- Currie, J.P. Butazolidin.
Dokumenta rheumatologica Geigy 5,
1954
- Dienemann, G. Mitteilung eines Todesfalles nach
kombinierter Verabreichung von
Irgapyrin und Meotocen.
Mü.Med.Wschr. 95, 221 (1953)

- Dihlmann, W. Zur Papierchromatographie von Pyrazolonderivaten.
Naturwissenschaften 40, 510 (1953)
- Ekman, B. Paperchromatographie of Primary Aromatic Amines.
Acta.Chem.Scand. 2, 383 (1949)
- Fabre, J., u.
R.S. Mach Irgapyrin, sein Einfluß auf die Salz und Wasserausscheidung und Renalfunktion.
Schweiz.Med.Wschr. 81, 473 (1951)
- Fähndrich, W.H., u.
J. Junkersdorf Vergleichende Untersuchungen zur parenteralen Pyramidontherapie unter besonderer Berücksichtigung des chronischen Gelenkrheumatismus.
Dtsch.Med.Wschr. 75, 1145 (1950)
- Fellinger
zit. bei Falk, W. Über die Behandlung akut rheumatischer Erkrankungen im Kindesalter.
Med.Klinik 47, 1190 (1952)
- Greene, J., u.
P.O. Williams Effect of Butazolidine on the Excretion of Water and Electrolytes.
Lancet 575 (1953)
- Grosse-Brockhoff, F. Die Häufigkeit von Herzerkrankungen im Verlauf des rheumatischen Fiebers und die medikamentöse Behandlung der Carditis rheumatica und verwandter Krankheiten.
Dtsch.Med.Wschr. 79, 15 (1949)
- Gsell, O., u.
W. Müller Parenterale Pyramidon- Pyrazolidin Therapie von Rheumatismus und Infekten mittels Irgapyrin.
- Grüne, A. Papierchromatographie, Arbeitsmethode 50 (1955)
Verkschrift der Firma Schleicher & Schüll. Dassel
- Kasselman, C.M. Über schwerste Nebenreaktionen nach Irgapyrin mit tödlicher exfoliativer erythrodermie.
Med.Klinik 19, 664 (1953)
- Hossfeld, R.L. Paper Partition Chromatographie of simple Phenols.
J.Americ.Chem.Soc. 73, 852 (1951)
- Mörlin, W.,
A. Linke, u.
E. Messmer Über die Beeinflussung der Diurese durch Pyramidon, Butazolidin und Irgapyrin.
Dtsch. Archiv für Klin. Med. 201, 690 (1955)
- Imhof, P., u.
A. Gianoli Zur Frage der Butazolidindosierung.
Schweiz.Med.Wschr. 84, 676 (1954)

- Kalvoda, R., u.
J. Zýka
Die polarometrische Titration in der pharmazeut. Analyse. Bestimmung von 3,5-dioxo-1,2-diphenyl-4-n-butylpyrazolidin in Arzneimitteln. Chem. Listy 46, 56 (1952)
- Kersley, G.D.
zit. bei Mason, R.M.
Effect of Phenylbutazone on Uric Acid Metabolism. Brit. Med. J. 788 (1954)
- Knorr, L.
zit. bei Scholz, H.
Über den papierchromatographischen Nachweis von Pyramidon Antipyrin und deren Ausscheidungsprodukte im Harn. Inaug. Diss. 1953 Erlangen
- Korus, W.,
H. Schriefers, u.
W. Dirscherl
Über den Stoffwechsel des Cortisons in der Rattenleber unter dem Einfluß von 3,5-Dioxo-1,2-diphenyl-4-n-butylpyrazolidine (Butazolidin). Arzneimittelforschung 6, 596 (1956)
- Kuzell, J.C.,
R.W. Schaffarzick,
W.E. Naugler,
G. Gaudin,
E.A. Mankle, u.
B. Brown
Phenylbutazone (Butazolidin) in Gout. Americ. J. of Medic. 212 (1954)
- Loewenhard, F.
Irgapyrin "Geigy" ein neues Antirheumaticum und Analgeticum aus der Pyrazolonreihe. Dtsch. Med. Wschr. 75, 459 (1950)
- Lynen, F., u.
E. Reichert
Zur chemischen Struktur der aktivierten Essigsäure. Angew. Chemie 63, 47 (1951)
- Mason, R. L.
Effect of Phenylbutazone on Uric Acid Metabolism. Brit. Med. J. 3, 738 (1954)
- Meyler, L.
Schädliche Nebenwirkungen von Arzneimitteln. 2. Aufl. S. 26 Wien, Springer Verlag 1956
- Mezger, H.J.
Nil nocere! Über unerwünschte Nebenerscheinungen moderner Behandlungsverfahren. Mü. Med. Wschr. 97, 177 (1955)
- Mooser, H.
Butazolidin, ein auf Läuse wirkendes Insektizid. Umschau 57, 182 (1957)
- Moss
zit. bei Pemberton, M.
Use of Phenylbutazone in Rheumatoid arthritis. Brit. Med. J. 490 (1954)
- Muth, H.
Elektrolytverhältnisse unter Irgapyrin und Butazolidin. Dtsch. Med. J. 5, 674 (1954)

- Patridge, S.M., u.
Gg. Westall
Filterpaper partition chromatographie of sugars. General description and application to the qualitative analysis of sugars in apple juice, egg white, and fetal blood of sheep.
Biochemic J. 42, 238 (1948)
- Pulver, R.
Über Irgapyrin ein neues Antirheumaticum und Analgeticum.
Schweiz.Med.Wschr. 80, 308 (1950)
- Scheiffarth, F.; u.
G.Berg
Klinische Erfahrungen mit der parenteralen Anwendung von Pyrazolderivaten.
Ärztl. Wschr. 6, 270 (1951)
- Schottmüller, R.
Rheumaprobleme 1, 156 (1926)
- Schultze, H.
Zur Schmerzbe kämpfung bei Krebskranken.
Dtsch.Med.Wschr. 80, 313 (1955)
- Seidel, K., u.
H. Knobloch
Experimentelle und klinische Untersuchungen mit Irgapyrin.
Mü.Med.Wschr. 96, 108 (1954)
- Stenzl, H.
zit. bei Wilhelmi, G.
Über die pharmakologischen Eigenschaften von Irgapyrin, einem neuen Präparat aus der Pyrazolreihe.
Schweiz.Med.Wschr. 49, 577 (1949)
- Stephens, C.A.L.
zit. bei Burns, J.J.
The Physiological Disposition of Phenylbutazone (Butazolidin) in Man and a Method for its Estimation in Biological Material.
J.Pharmacol. Exper. Therap. 109, 346 (1953)
- Thomas, K., u.
H. Kalbe
Über das Vorkommen von Malonsäure im Harn.
Hoppe-Seylers Zeitschr. für physiol.Chemie 293, 239 (1953)
- Tsai Fan Yü,
J.H. Sirota, u.
A.B. Gutman
Effect of Phenylbutazone on Renal Clearance of Urate and other discrete Renal Functions in Gouty Subjects.
Clin.Investigation 32, 1121 (1953)
- Weinig, E.,
H. Schmitt, u.
Gg.Schmidt
Zum Beweiswert von Averell und Norris beim Nachweis von E 605.
Archiv für Toxikologie 15, 423 (1955)
- Wilhelmi, G.
Über die pharmakologischen Eigenschaften von Irgapyrin, einem neuen Präparat aus der Pyrazolreihe.
Schweiz.Med.Wschr. 79, 577 (1949)
- Wilhelmi, G.
Über die antiphlogistische Wirkung von Pyrazolen, speziell von Irgapyrin, bei peroraler und parenteraler Verabreichung.
Schweiz.Med.Wschr. 80, 936 (1950).

Lebenslauf.

Am 18. April 1931 wurde ich, Ingrid Ramsauer, geb. Enders, als Tochter des Studienrates Dr. Hans Enders und seiner Ehefrau Paula, geb. Probst, in Winteritz, Kreis Kaaden, CSR geboren.

Nach 4 Klassen Volksschule trat ich am 1. September 1941 in die Oberschule für Jungen in Saaz (Sudetenland) ein. Im Zuge der Ausweisung der Sudetendeutschen kamen wir 1946 nach München/Oberfranken, wo ich am 13. Juli 1950 an der Städtischen Oberrealschule die Reifeprüfung bestand.

Im November 1950 begann ich an der Universität Erlangen das Medizinstudium und legte nach 5 vorklinischen Semestern im Februar 1953 das Physikum ab. Nach 6 klinischen Semestern an der Universität Erlangen bestand ich am 19. Juni 1956 das Medizinische Staatsexamen. Von Februar 1955 bis Dezember 1956 arbeitete ich am Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität Erlangen an meiner Dissertation. Seit 27.12.1956 bin ich mit dem Diplom-Ingenieur Herbert Ramsauer verheiratet.

